

**UNTERSUCHUNG ÜBER DIE WIRKUNGEN
HETEROLOGER ANTISEREN GEGEN SUBZELLULÄRE
LYMPHOZYTENFRAKTIONEN**

von

Franz Baier

aus

Niedereinsiedel, Kr. Schluckenau/Sudetenland

1970 № 157

Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus der Abteilung für klinische Immunologie
des Universitätskrankenhauses Erlangen-Nürnberg

Vorstand: Professor Dr. med. F. Scheiffarth

UNTERSUCHUNG ÜBER DIE WIRKUNGEN HETEROLOGER ANTISEREN GEGEN SUBZELLULÄRE LYMPHOZYTENFRAKTIONEN

Inaugural - Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde

der Hohen Medizinischen Fakultät

der Friedrich-Alexander-Universität

Erlangen-Nürnberg

vorgelegt

von

Franz Baier

aus

Niedereinsiedel, Kr. Schluckenau/Sudetenland

Gedruckt mit Erlaubnis der Medizinischen
Fakultät der Universität Erlangen-Nürnberg



Dekan: Prof. Dr. H. Valentin
Referent: Prof. Dr. F. Scheiffarth
Tag der mündlichen Prüfung: 19. 2. 1970

An dieser Stelle möchte ich dem hochverehrten Herrn
Professor Dr.med.F.Scheiffarth für die Überlassung des
Themas und Übernahme des Referates sehr herzlich danken.

Desgleichen gilt mein Dank Herrn Privatdozent Dr.med.
H.Warnatz für seine freundlichen Ratschläge und die Unter-
stützung bei der Abfassung der Arbeit.

Nicht zuletzt sei auch Herrn F.Rückert für seine ausge-
zeichnete technische Unterstützung gedankt.

Zu Dank verpflichtet bin ich auch Herrn Dr.R.Maier für die
elektronenmikroskopische Prüfung der subzellulären Lympho-
zytenfraktionen.

Inhalt

Seite

A. Einleitung und Einführung in die Literatur.....1

B. Hauptteil

a Methodik.....2

1. Gewinnung der subzellulären Lymphozytenfraktionen2

2. Gewinnung des ALS.....4

3. Behandlung der Ratten mit ALS.....4

4. Lymphozytenzählungen.....5

5. Hauttransplantationen.....5

6. Zytotoxische Reaktionen.....6

7. Lymphozytentransformationstest.....7

b Resultate

1. Ergebnisse des Lymphozytentransformationstestes..8

2. Lymphopenie nach Behandlung mit Antiseren.....9

3. Resultate der zytotoxischen Reaktionen in vitro..9

4. Verlängerung der Überlebenszeit homologer Trans-

plantate10

C. Diskussion11

D. Tabellenanhang.....14

E. Literatur.....20

Die Bildung von Antikörpern gegen Lymphozytenantigene, die durch Sensibilisierung mit Lymphozyten erzeugt werden, beruht auf dem Vorhandensein lymphozytenspezifischer Antigene, die in der heterologen Spezies immunogen wirken. Für die Immunisierung werden Lymphozyten aus Lymphknoten, Milz, aus dem peripheren Blut, dem Ductus thoracicus und dem Thymus verwendet. Bislang liegen noch keine gesicherten Ergebnisse vor, welche antigenen Komponenten der Lymphozyten für die spezifische Wirksamkeit der Antilymphozytenserum (ALS) verantwortlich sind. (5a, 10, 17).

Levey und Medawar (9) fraktionierten Thymozyten durch chemische Manipulationen in eine "lösliche", "unlösliche" und verschiedene Nukleoproteinfraktionen, die alle wirksame Antikörper induzierten.

In neueren Untersuchungen von Lance und Mitarbeitern (8) konnte gezeigt werden, dass unter den subzellulären Fraktionen die Membranfraktion die stärkste immunsuppressive Wirkung zeigte, während die Mitochondrienfraktion von Thymozyten Antiserum induzierten, welche für die Empfänger in hohen Dosen toxisch waren.

Auf Grund früherer Untersuchungen ist die Wirksamkeit von ALS in verschiedenen Testsystemen für die Charakterisierung von ALS unterschiedlich.

(1, 4, 5a, b, 6, 7, 11, 17, 18) Die immunsuppressive Wirkung

gegenüber primären und sekundären Immunantworten korreliert weder mit dem Grad der Lymphopenie, mit dem Titer der agglutinierenden oder lymphozytotoxischen Antikörpern noch mit der Stimulierung der "Blast-Zell-Bildung". Eine zuverlässige Testmethode zur Standardisierung von ALS fehlt noch. In den vorliegenden Untersuchungen wurden ALS durch Sensibilisierung von Kaninchen mit verschiedenen subzellulären Lymphozytenfraktionen der Ratte hergestellt. Diese Antiseren wurden (1) auf ihre Lymphopenie erzeugende Wirkung in vivo durch Lymphozytenzählungen im peripheren Blut, (2) auf ihren immunsuppressiven Effekt gemessen an der Transplantatüberlebenszeit, (3) auf ihre lymphozytotoxische Reaktion in vitro und (4) auf ihre lymphozytentransformierende Wirkung geprüft.

Methodik:

Tiere: Als Versuchstiere wurden weibliche Wistar-Ratten verwendet (180-220g Körpergewicht). Spender für Hauttransplantate waren männliche Sprague-Dawley-Ratten. Für die Gewinnung von Antiseren wurden weiße New-Zealand-Kaninchen immunisiert.

Gewinnung der subzellulären Lymphozytenfraktionen:

Es wurden die inguinalen, axillären, nuchalen und para-aortalen Lymphknoten von Wistar-Ratten entnommen. Die Lymphozyten wurden durch Zerzupfen der Lymphknoten mit Pinzetten und durch Drücken durch ein steriles rostfreies

Stahlsieb isoliert; anschließend wurden sie in der Neumayer Zählkammer ausgezählt.

Nach Zentrifugieren bei 700 rpm wurde das Lymphozytensediment mit einer 0,25 m Sucroslösung in 0,005 M Trispuffer ph 7,4 im Verhältnis 1:9 gemischt und in einem Homogenisator nach Potter-Elvehjem 30 min im Eisbad homogenisiert.

Nach niedertourigem Abzentrifugieren der nichtzerstörten Zellen und Gewebepartikel wurden die Zellfraktionen durch Differentialzentrifugierung gewonnen.

Fraktion I erhielt man nach einer Zentrifugation bei 1000 g von 30 min. Der Überstand wurde in einer Spinco L 50 Ultrazentrifuge bei 10000 g 30 min lang zentrifugiert; das Sediment ergab Fraktion II. Fraktion III war das Sediment einer Zentrifugation bei 120 000 g für 2 Stunden. Der partikelfreie Überstand wurde als Fraktion IV bezeichnet. Die Fraktionen I, II und III wurden zweimal in 0,25 m Sucroslösung ph 7,4 gewaschen.

Fraktion I bestand bei Untersuchungen im Phasenkontrastmikroskop im wesentlichen aus ganzen Kernen oder Kernbruchstücken. Intakte Zellen wurden nicht nachgewiesen. Fraktion II zeichnete sich hauptsächlich durch eine hohe Aktivität der Succinatdehydrogenase aus und enthielt vor allem bei elektronenmikroskopischer Prüfung Mitochondrien neben Verunreinigungen mit Kernbruchstücken. In Fraktion III konnte keine Succinatdehydrogenaseaktivität nachgewiesen werden. Die Hauptbestandteile dieser sogenannte Mikro-

somenfraktion bestand aus Membranen, wie in elektronenmikroskopischen Untersuchungen nachgewiesen wurde. Fraktion IV, die lösliche Zellfraktion, wurde in einem Druckdialysengerät auf einen Proteingehalt von 100 mg/100 ml eingeeengt.

Gewinnung des ALS:

Mit jeder der vier Lymphozytenfraktionen wurden je vier Kaninchen sensibilisiert. Vier anderen Kaninchen wurde das Homogenat von nicht fraktionierten Lymphozyten injiziert. 0,5 ml jeder Fraktion entsprechend 1×10^8 oder 0,5 ml des gesamten Lymphozytenhomogenats von 1×10^8 Zellen wurde mit gleichem Volumen von Freund'schem Adjuvans vermischt und subkutan injiziert. Die Injektionen wurden in der 1. Woche im Zeitraum von 2 Tagen wiederholt; in der zweiten und dritten Woche wurden die Tiere zweimal in der Woche injiziert. Nach einem zehntägigem Intervall wurde den Tieren Blut entnommen. Die von jeder Gruppe gewonnenen Seren wurden gepoolt. Die hitzeinaktivierten Seren wurden dreimal mit Erythrozyten und einmal mit Rattenserum absorbiert und bei -20°C aufbewahrt.

Behandlung der Ratten mit ALS :

Für jeden Versuch wurden 10 männliche Wistar-Ratten (durchschnittliches Körpergewicht 200 g) verwendet. Vor der ersten Serumapplikation wurden die Lymphozyten im peripheren Blut gezählt. Den Ratten wurden nacheinander

0,5 ml Kaninchenantiserum gegen die subzellulären Lymphozytenfraktionen, Antiserum gegen das unfractionierte Lymphozytenhomogenat oder normales Kaninchenserum injiziert; die Injektionen wurden intravenös in die Schwanzvenen verabreicht, in der ersten Woche in einem Intervall von 2 Tagen, später im Intervall von 4 Tagen. Bei einigen Ratten wurden anaphylaktische Reaktionen beobachtet, bei den meisten Tieren kam es jedoch während des Verfahrens zu keinem Zwischenfall. Eine leichte Proteinurie entwickelte sich bei 6 der 20 Ratten.

Lymphozytenzählungen:

Lymphozytenzählungen wurden in viertägigen Intervallen durchgeführt. Das Blut wurde aus der Schwanzvene gewonnen und nach Zusatz von 3% Essigsäure wurden die Lymphozyten in einer Neumayer-Zählkammer ausgezählt. In diesen Experimenten wurden alle mononukleären Zellen als Lymphozyten klassifiziert.

Hauttransplantation:

Hauttransplantate (annähernd 1 cm im Durchmesser) vom Abdomen männlicher Sprague-Dawley-Ratten wurden auf den Rücken von Wistar-Ratten überpflanzt. Jedes Transplantat wurde mit 5 bis 10 Nähten eingefügt und mit einem plastischen Wundspray besprüht. Die Transplantate wurden mit Gaze und einem zirkulären Verband fixiert. Die Transplantate wurden erstmals am 8. Tag geprüft, in der nächsten

Woche täglich und darauf dreimal wöchentlich. Der Tag, an dem zuerst Exsudat, Ödeme, Hämorrhagien oder Epithelverlust beobachtet wurden, wurde als Termin der Abstoßungsreaktion bezeichnet.

Zytotoxische Reaktion:

5×10^5 Lymphozyten wurden in 0,5 ml Hank's Lösung pH 7,3 gelöst, die 10% inaktiviertes Rattenserum enthielt. Die Zellen wurden mit 0,25 ml der doppelten Verdünnungen von Antilymphozytenserum eine Stunde lang inkubiert. Als Komplementspender wurden 0,5 ml des unverdünnten normalen Kaninchenserus hinzugefügt. Nach Inkubieren von 1 Stunde bei 37°C wurden die lebenden und die toten Zellen durch Anfärben mit einer 0,1% Nigrosinlösung bestimmt. Im Kontrollversuch werden Lymphozyten mit normalem Rattenserum inkubiert statt mit Antilymphozytenserum. 250 Zellen wurden in einer Zählkammer ausgezählt und der Prozentsatz der angefärbten=toten Zellen festgestellt.

Lymphozytentransformationstest:

Den Ratten wurden die nuchalen, axillären und inguinalen Lymphknoten entnommen; die Lymphknoten wurden zerkleinert und mit Pinzetten zerzupft. Die in Hank's Lösung suspendierten Lymphozyten wurden ausgezählt. 10×10^6 Lymphozyten wurden in 10 ml einer Gewebekultur gezüchtet, die aus 90% Eagles Nährmedium bestand und 10% Rattenserum, das aus normalen Ratten durch Punktion der Aorta erhalten wurde. 100 E Penicillin und 0,1 mg Streptomycin wurden

pro ml hinzugefügt. Das pH wurde mit 4% Natriumbicarbonat auf 7,4 eingestellt. Normale Rattenlymphozyten wurden in flachen Vierkantflaschen mit 0,5 oder 0,125 ml der Antiseren gegen die subzellulären Lymphozytenfraktionen, oder gegen das unfractionierte Lymphozytenhomogenat gezüchtet. Die Prüfung der Kulturen erfolgte nach einer Inkubationszeit von 5 Tagen. 12 Stunden vor der Entnahme der Kulturen wurden $10 \mu\text{C } ^3\text{H-Thymidin}$ der spezifischen Aktivität 30Ci/mM (Radio-Chemical Center Amersham, England) zugegeben. Die Zellsuspension wurde bei 700rpm 15 min lang zentrifugiert, in einer Mischung der Zusammensetzung von 3 Teilen Äthanol und 1 Teil Eisessig fixiert und auf tiefgekühlten Objektträgern ausgeblasen. Die Autoradiographie wurde gemäß der Film-stripping-Methode ausgeführt. Die Filme wurden nach einer Expositionszeit von 15 bis 21 Tagen entwickelt und die Präparate nach Pappenheim gefärbt. Zellen wurden als positiv beurteilt, wenn wenigstens die dreifache Granulazahl im Vergleich zur umgebenden Zahl über dem Kern gelagert war. Unter 1000 Zellen wurde der Prozentsatz an markierten Zellen bestimmt.

Statistische Analysen:

Alle statistischen Analysen wurden gemäß dem U-Test von Mann und Withney durchgeführt.

Resultate:

Ergebnisse des Lymphozytentransformationstestes

Die Resultate des Lymphozytentransformationstestes, bei dem Lymphozyten normaler Ratten mit den Antiseren gegen die verschiedenen subzellulären Lymphozytenfraktionen und mit dem Antiserum gegen das unfractionierte Lymphozytenhomogenat inkubiert wurden, sind in Tabelle I zusammengestellt.

Lymphozyten normaler Ratten zeigten eine verstärkte ^3H -Thymidin-Raffung nach Inkubation mit allen Antiseren, die durch Sensibilisierung mit verschiedenen Lymphozytenfraktionen gewonnen worden waren. Das Antiserum gegen die lösliche Zellfraktion (Fraktion IV) hatte den stärksten stimulierenden Effekt. Die Zahl der markierten Zellen war in diesen Kulturen signifikant höher als in den Lymphozytenkulturen, die mit Antiseren gegen Fraktion I ($0,05 > p > 0,025$), mit Antiserum gegen Fraktion II ($p < 0,001$) und Antiserum gegen Fraktion III ($0,025 > p > 0,01$) inkubiert wurden. Der stimulierende Effekt des Antiserums gegen Fraktion IV jedoch war nicht stärker als der des Antiserums, das man durch Sensibilisierung mit dem unfractionierten Lymphozytenhomogenat erhalten hatte.

Lymphozyten von Ratten, die man mit den Antiseren gegen die verschiedenen subzellulären Lymphozytenfraktionen vorbehandelt hatte, zeigten keine erhöhte Transformationsrate, wenn sie mit den gleichen Antiseren in

vitro inkubiert werden(s. Tabelle II).Dieses Resultat konnte in gleicher Weise bei allen Antiseren bestätigt werden.Mit dem Antiserum gegen das unfractionierte Lymphozytenhomogenat jedoch konnten die Lymphozyten von mit Antiseren gegen die subzellulären Fraktionen vorbehandelten Ratten zu verstärkter "Blast-Zell-Bildung" angeregt werden.

Lymphopenie nach Behandlung mit den Antiseren:

Die Verringerung der Lymphozytenzahl im peripheren Blut, die durch Antiseren gegen die subzellulären Fraktionen und gegen das unfractionierte Lymphozytenhomogenat erzeugt wurde,wird in Figur I dargestellt.Die Lymphozytenzahl sank innerhalb von 2 Tagen nach Behandlung mit allen Antiseren bis auf 5% der Normalwerte. Den stärksten depressiven Effekt verursachten die Antiseren gegen die Fraktionen I und III,aber die Unterschiede bei der Verringerung der Lymphozytenzahl waren statistisch nicht signifikant.Während der Behandlungsdauer von vier Wochen konnte man keine Rückbildung der Lymphozytenzahl im peripheren Blut beobachten.

Resultate der zytotoxischen Reaktionen in vitro

Die zytotoxischen Titer der Antiseren gegen die subzellulären Lymphozytenfraktionen sind in Tabelle 3 angegeben. Alle Antiseren hatten einen zytotoxischen Effekt auf die Lymphozyten.Das Antiserum gegen das unfractionierte Lymphozytenhomogenat und die Antiseren gegen die subzellulären Fraktionen I und II waren am stärksten wirksam.

Verlängerung der Überlebenszeit homologer Transplantate

Der immunsuppressive Effekt der Antiseren wurde nach der Verlängerung der Überlebenszeit homologer Transplantate beurteilt. Die Ergebnisse sind in Tabelle 4 zusammengestellt.

Im Hinblick auf die Transplantatüberlebenszeit war das Antiserum gegen das unfraktionierte Lymphozytenhomogenat am stärksten wirksam. Von den Antiseren gegen die subzellulären Lymphozytenfraktionen zeigten die gegen Fraktion I und III den besten immunsuppressiven Effekt.

Diskussion:

Mehrere Autoren konnten nachweisen, daß der immunsuppressive Effekt von Antilymphozytenserum, insbesondere die Fähigkeit, die Überlebenszeit homologer Transplantate zu verlängern, weder mit dem Gehalt an zytotoxischen oder agglutinierenden Antikörpern noch mit der Fähigkeit eine Lymphopenie zu erzeugen, in Wechselwirkung stehen kann. (1,5a,6,7,16,18) Jee jeebhoy (6,7), der ein Anti-Ratten-Lymphozytenplasma vom Hund verwendete, zeigte, daß das Hunde-Antiserum keinen immunsuppressiven Effekt hatte, obwohl das Antiserum eine Lymphopenie verursachte und hohe Titer von agglutinierenden und zytotoxischen Antikörpern enthielt. Es wurde deshalb vermutet, daß für diese Ergebnisse Antikörper gegen verschiedene antigene Anteile der Lymphozyten verantwortlich sind, die nicht identisch mit den individual spezifischen Antigenen sind, die die Gewebsverträglichkeit betreffen. Der mitogene Effekt von Antilymphozytenserum wurde von zahlreichen Forschern geprüft (2,4,11-15,17). Sell und Gell wiesen nach, daß Antiseren gegen IgG, IgG-Subfraktionen und allo genetische und antiallotypische Seren Lymphozyten stimulieren, sich in der gleichen Weise wie ALS (12-15) in "Blast-Zellen" umwandeln, und daß die transformierende Fähigkeit des Antikörpers mit dem F(ab) Fragment des Gammaglobulins verbunden ist. Diese Untersuchungen beweisen, daß Gammaglobulin ein Rezeptor auf oder im Lymphozyten ist, dessen Reaktion mit dem

Antikörpern die Lymphozyten zur "Blastzellenbildung" stimuliert. Außerdem konnte gezeigt werden, daß die mitogene Fähigkeit von ALS von der verabreichten Dosis abhängt.

Die Ergebnisse dieser Untersuchungen bringen den weiteren Beweis, daß durch Sensibilisierung mit subzellulären Lymphozytenfraktionen verschiedene Antikörper produziert werden, die für verschiedene antigene Anteile der Lymphozyten spezifisch sind. Obwohl alle Antiseren gegen subzelluläre Lymphozytenfraktionen eine Verlängerung der Überlebenszeit homologer Transplantate hervorrufen, eine Lymphopenie verursachen und für Lymphozyten zytotoxisch sind, ging die Wirksamkeit in den verschiedenen Testsystemen weit auseinander. In allen Fällen zeigte das Antiserum gegen das unfractionierte Lymphozytenhomogenat die größte Wirksamkeit. Von den Antiseren gegen die subzellulären Lymphozytenfraktionen hatten den stärksten immunsuppressiven Effekt die Antiseren gegen Fraktion I und III. Diese Antiseren wiesen auch die höchsten zytotoxischen Titer für Lymphozyten in vitro auf. Die Untersuchungen von Lance und Mitarbeitern (8) lassen vermuten, daß die zytoplasmatischen Membranen von Lymphozyten die stärksten Antigene für die Produktion von ALS sind. Unsere Fraktion III war elektronenmikroskopisch reich an Membranen; darüberhinaus darf man annehmen, daß der Fraktion I zytoplasmatische

Membranen beigemischt waren. In diesen Untersuchungen ist die immunsuppressive und lymphozytotoxische Fähigkeit des ALS sehr wahrscheinlich auch mit den Membrantigenen der Lymphozyten verbunden.

Von besonderem Interesse ist der starke mitogene Effekt des Antiserums gegen die lösliche Zellfraktion IV, die nicht so zytotoxisch für Lymphozyten war wie die Antiseren gegen Fraktion I und III. Dieses Ergebnis kann nicht als Folge eines höheren Antikörpertiters gedeutet werden, da keine signifikanten Unterschiede in den Transformationsraten der Lymphozytenkulturen beobachtet wurden bei Inkubieren mit verschiedenen Dosen von Antiseren. Die Resultate lassen annehmen, daß das antigene Material der löslichen Zellfraktion Rezeptoren an der Oberfläche darstellt, die nach Reaktion mit Antikörpern die Transformation der Lymphozyten auslösen. Diese Antigene sind wahrscheinlich verschieden von denen, die die zytotoxischen Antikörper induzieren. Von ebenfalls besonderem Interesse ist die Untersuchung, daß Rattenlymphozyten, die mit heterologem ALS behandelt sind, nicht mit einer erhöhten Transformationsrate reagieren, wenn sie mit dem gleichen Antiserum inkubiert wurden. Schließlich verdient der Befund besondere Erwähnung, daß Lymphozyten von Tieren, die mit diesem Antiserum vorbehandelt wurden nicht mehr stimulierbar sind.

Tabelle 1:

Transformationsrate von Lymphozyten von unbehandelten Ratten nach Inkubation mit Antilymphozytenseren und Antiseren gegen subzelluläre Lymphozytenfraktionen.^x

Der Kultur beigege- benes Kaninchenserum	Dosis in ml	Durchschnittlicher Wert der markierten Zellen in Prozent
Antiserum gegen Fraktion I	0,5 0,125	5,2 $\pm$ 3,2 4,8 $\pm$ 2,9
Antiserum gegen Fraktion II	0,5 0,125	2,6 $\pm$ 1,3 3,1 $\pm$ 2,0
Antiserum gegen Fraktion III	0,5 0,125	4,6 $\pm$ 1,6 4,9 $\pm$ 1,8
Antiserum gegen Fraktion IV	0,5 0,125	7,6 $\pm$ 2,6 6,8 $\pm$ 2,4
Antiserum gegen ULH ^{xx}	0,5 0,125	12,5 $\pm$ 4,2 10,6 $\pm$ 3,9
Normalserum	0,5 0,125	1,1 $\pm$ 0,8 1,8 $\pm$ 0,9

^xLymphozyten von unbehandelten Wistarratten wurden mit 0,5 oder 0,125 ml von Kaninchenantiseren gegen subzelluläre Fraktionen von Rattenlymphozyten, mit Kaninchenantiseren gegen ULH und mit normalem Kaninchenserum inkubiert,

Die durchschnittlichen Werte der ³H-Thymidin markierten Zellen wurden durch Auszählen von 1000 Zellen in Lymphozytenkulturen von 10 Ratten jeder Gruppe bestimmt.

^{xx}Unfraktioniertes Lymphozytenhomogenat

Tabelle 2:

Transformationsrate von Rattenlymphozyten, die mit Antiseren gegen subzelluläre Lymphozytenfraktionen, gegen ULH oder mit normalem Kaninchenserum unter Berücksichtigung nach Inkubation mit den entsprechenden Antiseren^x behandelt sind.

Rattenlymphozyten, Transformationsrate von Lymphozyten nach die behandelt sind Inkubation in vitro mit

	in der Vorbehandlung	Antiserum	normales Kanin-
	angewandtem Antiserum	gegen ULH	chenserum
Antiserum gegen Fraktion I	$2,1 \pm 1,1$	$4,8 \pm 1,7$	$2,7 \pm 1,4$
Antiserum gegen Fraktion II	$3,0 \pm 0,8$	$11,2 \pm 4,1$	$2,4 \pm 0,9$
Antiserum gegen Fraktion III	$4,2 \pm 1,4$	$7,8 \pm 2,9$	$5,0 \pm 1,8$
Antiserum gegen Fraktion IV	$1,5 \pm 0,7$	$10,4 \pm 5,1$	$2,6 \pm 0,6$
Antiserum gegen ULH ^{xx}	$5,6 \pm 1,2$	$5,6 \pm 1,2$	$2,9 \pm 1,4$
Mit normalem Kaninchenserum	$3,1 \pm 0,7$	$8,1 \pm 2,6$	$3,1 \pm 0,7$

Lymphozyten von Wistarratten, die nacheinander mit Antiseren gegen die subzellulären Fraktionen I bis IV, mit Antiserum gegen ULH oder mit normalem Kaninchenserum behandelt waren.

Die Lymphozyten wurden mit Antiseren, mit denen die Ratten vorbehandelt wurden, mit Antiserum gegen ULH oder mit normalem Kaninchenserum gezüchtet. Die Durchschnittswerte der ³H-Thymidin markierten Lymphozyten werden durch 1000 ausgezählte Zellen in den Kulturen von 10 Ratten jeder Gruppe bestimmt.

^{xx}Unfraktioniertes Lymphozytenhomogenat

Tabelle 3 :

Titer von zytotoxischen Antikörpern gegen Rattenlymphozyten, die nach Antiseren gegen die subzellulären Fraktionen der Rattenlymphozyten und nach Antiseren gegen unfractioniertes Lymphozytenhomogenat (ULH) beurteilt sind.

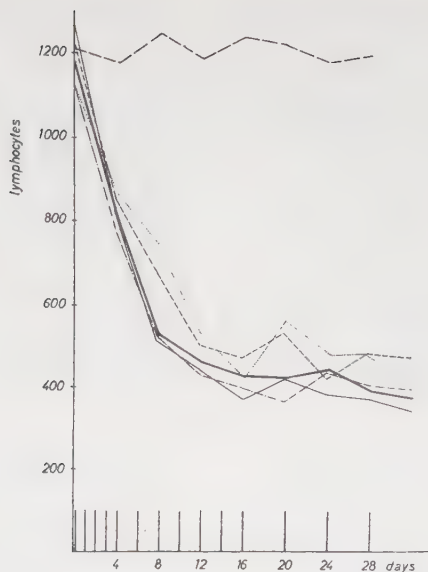
Kaninchenantiseren gegen	Reziproker Wert der zytoto- xischen Antikörpertiter in den Seren der vier den zusammenge- immunisierten Kaninchen gebenen Seren	
Fraktion I	256, 128, 64, 64	128
Fraktion II	64, 64, 32, 32	32
Fraktion III	128, 128, 64, 32	64
Fraktion IV	64, 32, 32, 8	32
ULH	512, 512, 256, 64	256
Kontrolle (normales Kaninchenserum)	4, 4, 0, 0	0

Tabelle 4:

Verlängerung der Transplantatüberlebenszeit durch Kaninchen.-
Anti-Ratten-Lymphozytenserum.

Kaninchenserum	Überlebenszeit in Tagen	Individuelle Überlebens - zeit in Tagen
Fraktion I	16,7	26,22,16,14,12,10
Fraktion II	11,8	15,14,12,10,10,10
Fraktion III	17,0	22,18,18,16,14,14
Fraktion IV	13,0	18,16,12,12,10,10
ULH	19,7	32,24,22,16,14,10
Kontrolle (Normales Kaninchenserum)	11,4	14,12,10,12,10,10

Die Antiseren wurden von Kaninchen erhalten, die mit subzellulären Lymphozytenfraktionen oder unfraktionierten Lymphozytenhomogenat (ULH) immunisiert waren. Es wurde die Fähigkeit der Seren, die Überlebenszeit homologer Hauttransplantate von Sprague-Dawley-Ratten auf Wistar-Ratten beurteilt.



Figur 1:

Durchschnittliche Lymphzytenzahl von 10 Ratten jeder Gruppe wurde in Intervallen von 4 Tagen bestimmt. Die Ratten wurden mit normalem Serum (---), mit Antiserum gegen unfraktioniertes Lymphozytenhomogenat (—) oder mit Antiseren gegen subzelluläre Lymphozytenfraktionen I (— · —), II (- - -), III (- · - · -) und IV (· · · · ·) behandelt. Die Säulen zeigen die Injektionen von 0,5 ml Antiserum.

Zusammenfassung:

Subzelluläre Lymphozytenfraktionen von Ratten wurden für die Sensibilisierung von Kaninchen verwendet. Die Antiseren wurden auf ihre immunsuppressive Wirksamkeit, weiterhin auf ihre Fähigkeit, die Zahl der Lymphozyten zu verringern, eine lymphozytotoxische Reaktion in vitro zu erzeugen und die Lymphozyten zur "Blast-Zell-Bildung" anzuregen geprüft. Die Ergebnisse zeigen, daß die Antiseren gegen die verschiedenen subzellulären Lymphozytenfraktionen je nach den angewandten Test-Systemen eine unterschiedliche Wirksamkeit zeigen. Die wirksamsten immunsuppressiven Antiseren waren die gegen die Zell- und Mikrosomenfraktion. Diese Antiseren zeigten auch die höchsten zytotoxischen Titer gegen Lymphozyten in vitro. Das Antiserum gegen die lösliche Zellfraktion jedoch hatte die stärkste mitogene Wirkung. Diese Ergebnisse lassen vermuten, daß Lymphozyten Antigene, die starke zytotoxische Antikörper induzieren, und andere Antigene besitzen, welche nicht zytotoxische Antikörper produzieren, aber Lymphozyten zur "Blast-Zell-Bildung" anregen.

Literatur:

1. Anderson N.F. James K. und Woodruff M.F.A.
Lancet I. 1126 (1967)
2. Greaves M.F. Roitt I.M. Zamir R. Carnaghan R.B.A.
Lancet II 1317 (1967)
3. Green D.E., Mii S., Kohout P.M.
J. biol. Chem. 217 551 (1955)
4. Humphrey L.J., Kaufmann J.H.M., Dunn E.
Science 157 441 (1967)
- 5a. James K.
Clin. exp. Immunol. 2 615 (1967)
- 5b. James K.
Clin. exp. Immunol. 2 685 (1967)
6. Jeejeebhoy H.J.
Transplantation
7. Jeejeebhoy H.J. Vela-Martinez J.M.
Transplantation 6 149 (1968)
8. Lance E.M., Ford P.J., Ruzsiewicz
Immunology 15 571 (1968)
9. Levey R.H., Medawar P.B.
Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.) 56 1130 (1966)
10. Levey R.H., Medawar P.B.
in Antilymphocytic serum, Wolstenholme G.E.W. und O'Conner M.
eds., J. und A. Churchill Ltd. London 1967 p.72
11. Ling N.r., Knight S., Hardy D., Stanworth D.R. und Hold P.L.L.
in Antilymphocytic serum, Wolstenholme G.E.W. und O'Conner M.
eds., J. und A. Churchill Ltd. London 1967 p.41
12. Sell S., Gell P.G.H.
J. exp. Med. 122 823 (1965)
13. Sell S.
J. exp. Med. 125 289 (1967)
14. Sell S., Gell P.G.H.
J. exp. Med. 122 423 (1965)
15. Sell S.
J. Immun. 98 786 (1967)
16. Pichlmayr R.
Z. ges. exp. Med. 143 161 (1967)
17. Russel P.S., Monaco A.P.
Transplantation 5 1086 (1967)
18. Woodruff M.F.A., Reid B.L., James K.
Nature (London) 216 785 (1967)

Lebenslauf

Ich, Franz B a i e r, wurde am 3.7.1944 in Niedereinsiedel, Kreis Schluckenau (Sudetenland) geboren. Meine Kindheit verbrachte ich nach der Vertreibung im Jahre 1945 in Heroldsbach, wo ich auch von 1950-1954 die Volksschule besuchte.

Mein Vater ist an der hiesigen Volksschule als Rektor tätig, meine Mutter ist Handarbeits- und Hauswirtschaftsoberlehrerin. Ich habe noch zwei Geschwister. Meine Schwester ist als Beamtin am Finanzamt in Forchheim tätig, mein Bruder besucht die Oberschule in Forchheim.

Ich absolvierte das Alte Gymnasium in Bamberg und legte die Reifeprüfung 1963 ab. Im gleichen Jahr begann ich das Medizinstudium in Erlangen, wo ich auch während der folgenden 12 Semester verblieb. Das Staatsexamen habe ich am 11. Februar 1970 beendet.

Offsetdruck-Fotodruck

J. Hög, 8520 Erlangen Hauptstr. 109, (Nähe Martin-Luther-Platz) Tel. 22990